



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN



"CULTIVO in vitro DE Cordyline terminalis  
A PARTIR DE SEGMENTOS NODALES"

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
INGENIERO AGRICOLA  
P R E S E N T A :  
JESUS DURAN GUZMAN

Asesor: Dr. Héctor González Rosas

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1993

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## CONTENIDO

	PAG.
INDICE DE CUADROS.....	1
INDICE DE FIGURAS.....	111
RESUMEN.....	17
1. INTRODUCCION.....	1
2. REVISION BIBLIOGRAFICA.....	5
2.1. <u>Cordyline terminalis</u> .....	5
2.1.1. Hábitad y distribución geográfica de <u>Cordyline terminalis</u> .....	5
2.1.2. Descripción botánica.....	5
2.2. Multiplicación asexual.....	7
2.2.1. Generalidades de la Multiplicación asexual.....	7
2.2.2. Métodos convencionales de propagación de las cordilines.....	8
2.3. Cultivo <u>in vitro</u> .....	9
2.3.1. Generalidades.....	9
2.3.2. Mecanismos de morfogénesis.....	13
2.3.3. Cultivo <u>in vitro</u> vía formación de brotes a partir de segmentos nodales.....	14
2.3.4. Factores que intervienen en el cultivo <u>in vitro</u> .....	15

	PAG.
2.3.4.1. Selección del inóculo.....	15
2.3.4.2. Medio de cultivo.....	16
2.3.4.3. Reguladores de crecimiento.....	17
2.3.4.4. Condiciones de cultivo.....	20
3. MATERIALES Y METODOS.....	22
3.1. Establecimiento del cultivo aséptico.....	22
3.1.1. Obtención del inóculo.....	22
3.1.2. Desinfección y siembra.....	22
3.1.3. Medio de cultivo.....	23
3.1.4. Reguladores de crecimiento.....	24
3.2. Multiplicación del inóculo.....	28
3.3. Enraizamiento de brotes.....	28
3.4. Análisis estadístico.....	30
3.4.1. Toma de datos.....	30
3.4.2. Diseño experimental.....	30
4. RESULTADOS Y DISCUSION.....	32
4.1. Establecimiento del cultivo aséptico.....	32
4.1.1. Desinfestación y medio de cultivo.....	32
4.1.2. Respuesta obtenida en los inóculos con las diferentes concentraciones de reguladores empleados.....	33
4.2. Multiplicación del inóculo.....	35
4.2.1. Tiempo de inicio de formación.....	35
4.2.2. Número de brotes producidos.....	38
4.2.3. Longitud de brotes.....	41

	PAG.
5. CONCLUSIONES.....	45
6. BIBLIOGRAFIA.....	47
ANEXOS.....	51

## INDICE DE CUADROS

CUADRO		PAG.
1	Medio de Murashige & Skoog (1962)	24
2	Combinación ANA/K adicionadas al medio M. S para inducir el desarrollo y crecimiento de las yemas en la fase de establecimiento.	26
3	Combinación ANA/BA adicionadas al medio M. S para inducir el desarrollo y crecimiento de las yemas en la fase de establecimiento	27
4	Concentraciones de K adicionadas al medio de cultivo (M. S.) en la fase de multiplicación	29
5	Concentraciones de ANA/BA adicionadas al medio de cultivo (M. S) en la fase de multiplicación	29
6	Respuesta de los inóculos de <u>Cordyline terminalis</u> cultivados en el medio M. S adicionado con K, durante la fase de multiplicación, experimento 1.	36
7	Respuesta de los inóculos de <u>Cordyline terminalis</u> cultivados en el medio M. S adicionado con ANA/BA durante la fase de multiplicación, experimento 2.	37

CUADRO		PAG.
8	Análisis de varianza para la variable número de brotes producidos empleando el medio M.S adicionado con K, experimento 1.	51
9	Prueba de tukey para la variable número de brotes producidos.	51
10	Análisis de varianza para la variable longitud de brotes empleando el medio M.S adicionado con K, experimento 1.	52
11	Prueba de tukey para la variable longitud de brotes.	52
12	Análisis de varianza para la variable número de brotes producidos empleando el medio M.S adicionado con ANA/B, experimento 2.	53
13	Prueba de tukey para la variable número de brotes producidos.	53
14	Análisis de varianza para la variable longitud de brotes, empleando el medio M.S adicionado con ANA/BA, experimento 2.	54
15	Prueba de tukey para la variable longitud de brotes.	54

## INDICE DE FIGURAS

FIG.		PAG.
1	Gráfica comparativa de los promedios obtenidos en los experimentos 1,2, de la variable número de brotes obtenidos.	40
2	Gráfica comparativa de los promedios obtenidos en los experimentos 1,2. de la variable longitud de brotes.	44

## 1. INTRODUCCION

Existen algunas definiciones para las plantas de follaje, sin embargo, dada la diversidad de hábitos y usos se considera difícil establecer una definición que las incluya a todas.

Tal vez, la definición más cercana a ubicar a ese tipo de plantas es: cualquier planta cultivada primeramente por su follaje y utilizada para la decoración de interiores o con propósitos de paisaje interior, esto sin considerar que pueda tener flores, aspecto secundario siempre y cuando se comprenda que la característica follaje es su principal atractivo.

A pesar que desde principios de 1980 la industria de plantas de follaje se desarrolló en E.U.A. y en Europa, el potencial del cultivo en este tipo de plantas y su explotación se inicia en la década de los setentas; que con la utilización de invernaderos para su cultivo, los hace más competitivos, reduciéndose con ello en gran medida una serie de problemas que se tenían al ser cultivadas a cielo abierto.

En México, la horticultura ornamental es considerada una actividad productiva que en los últimos años se ha incrementado; y de acuerdo a diferentes fuentes, se tiene, que se dedica de 3,500 a 5,000 hectáreas para ésta actividad agrícola,

proyectándose un crecimiento más acelerado para los próximos años. De tal forma, que es considerada una actividad importante que puede contribuir a promover el desarrollo de diversas regiones de nuestro país y generar divisas.

Actualmente, la actividad agrícola en México requiere de un fuerte impulso de frente al inminente establecimiento del Tratado de Libre Comercio. La necesidad de incrementar los niveles de exportación requerirá del mejoramiento de la tecnología existente que incremente la calidad de los productos generados, para competir tanto en el mercado de norteamérica, como con los países de América del Sur con los que se mantengan tratados comerciales como el que ahora existe con Chile.

Estudios del sector oficial y privado, consideran que México mantiene una posición preponderante sobre todo en el mercado norteamericano, ya que existen las condiciones agroclimáticas y de cercanía geográfica, para convertirse con éxito en un exportador importante de flores básicas como: crisantemo, clavel, gladiola, rosa, etc., así como de plantas de follaje, cactáceas, arbóreas e inclusive genotipos silvestres.

Aún cuando la mayoría de las plantas de follaje son relativamente fáciles de propagar con métodos tradicionales como esquejes, estacas, acodos y semilla. En la última década el

cultivo de tejidos se ha considerado de gran importancia en la propagación de éstas plantas, generando y afinando sus técnicas en la micropropagación de las mismas.

Las cordilines son plantas ornamentales de follaje cuya demanda en nuestro país, ha aumentado de las década de los ochentas a la fecha. Son empleadas para decorar interiores, debido a que se prestan perfectamente para la inclusión y composiciones donde alegran el conjunto por su porte erguido y el colorido de sus hojas.

Con las técnicas de cultivo in vitro aplicadas en la propagación de éste tipo de plantas se abren muchas perspectivas en diversas áreas. A pesar que en México esa técnica ha tenido mayor auge en ésta última década, los trabajos en cultivo in vitro realizados en plantas de follaje son pocos y aislados.

Por lo anterior en la presente investigación se plantearon los siguientes objetivos.

. Establecer la metodología que permita el cultivo in vitro de Cordyline terminalis.

. Determinar las respuestas que se puedan producir en los inóculos, a la aplicación de diferentes concentraciones de las combinaciones de reguladores de crecimiento empleadas (ANA/K y ANA/BA) en el medio de cultivo.

. Determinar con cual de los dos citocininas empleadas en este trabajo: Cinetina (K) y Bencilaminopurina (BA), se presenta una mejor respuesta para inducir la brotación múltiple en los inóculos.

## 2. REVISION BIBLIOGRAFICA

### 2.1. Cordyline terminalis.

#### 2.1.1. Hábitat y distribución geográfica de Cordyline terminalis

El género Cordyline comprende de 15 a 20 especies actualmente conocidas; crecen en las regiones tropicales y subtropicales de Asia, Australia y Africa. Únicamente Cordyline dracaenoides habita en el continente americano, específicamente en Brasil (13), (14).

Las cordilines en estado natural son uno de los componentes del estrato inferior de los bosques. También se les encuentra en laderas rocosas y, muy a menudo, en los peñascos verticales al mar o en las plataformas rocosas cerca del litoral marino siendo el caso de Cordyline australis en Nueva Zelanda (13), (14).

#### 2.1.2. Descripción botánica

Las cordylines son plantas monocotiledóneas que pertenecen a la familia de las Agavaceas (13), (14), (16).

Son plantas que en su hábitat natural se presentan desde formas arbustivas como arbóreas, de follaje vistoso. Son plantas que no sobrepasan el 1.80 metros de altura, mientras que en estado natural llegan a alcanzar hasta los 3 metros (13), (14), (19).

Presentan un tallo fino de aproximadamente 20 mm. de diámetro. Sus hojas de forma lanceolada son simples, enteras, coráceas, de color verde intenso, con bordes matizados, de tonos carmín brillante. rojo, rosa y blanco amarillento. Alcanzan una longitud de 50 cms. y un ancho de 10 cms., presentando una nervadura principal acentuada (4), (7), (13), (14).

Las dracaenas son plantas muy parecidas a las cordilines; con frecuencia estos dos géneros son confundidos el uno con el otro, ya que poseen características en común, sin embargo estos se difencian totalmente al examinar su raíz, las especies de Dracaena poseen raíces de color naranja o amarillo claro y no convienen para la multiplicación; en tanto las especies de Cordyline presentan rizomas vigorosos de color blanco cremo, los cuales sirven de material vegetativo en la propagación de las mismas (13), (14), (19).

## 2.2. Multiplicación asexual

### 2.2.1. Generalidades de la multiplicación asexual

La multiplicación vegetativa se caracteriza por la propagación de individuos genéticamente idénticos a la planta madre, conducente así a la constitución de clones homogéneos, siempre que no sobrevengan ni mutaciones ni variación (9), (18).

Este tipo de propagación es posible debido a que cada una de las células de la planta contiene todos los genes necesarios para el crecimiento y desarrollo y, en la división celular (mitosis) que se efectúa durante el crecimiento y regeneración, los genes son replicados en las células hijas. En consecuencia las características de ésta nueva planta serán las mismas de aquella de la cual se originó (9), (18).

La aptitud para la multiplicación vegetativa puede ser considerada como una potencialidad fundamental de los vegetales. Toda célula diploide posee en principio en su núcleo la totalidad de la información de característica del genotipo. La reconstitución de un individuo por vía asexual a partir de una célula o de un pequeño número de células es la expresión de la "totipotencia celular" (12), (18), (26).

### 2.2.2. Métodos convencionales de propagación de las Cordilines

Las cordilines son plantas propagadas exclusivamente por vía asexual, por medio de esquejes de rizoma, esquejes terminales y por estacas, resultando impracticable en los dos últimos casos, debido a que es mutilada la planta, resultando poco favorable puesto que los resultados en la propagación son poco satisfactorios a nivel comercial (14), (15).

Así se tiene, que los rizomas son utilizados principalmente como material vegetativo en la propagación de éste género. En relación al material vegetativo, se tiene que éste es importado de Centro y Sudamérica o de Africa, donde se cuenta con planta madre. Anteriormente el productor podía obtenerlo de las plantas que estaban por salir al mercado, pero recientemente los nuevos cultivares ya no presentan un rizoma vigoroso, trayendo consigo que el material disminuya en calidad y cantidad (3), (15).

Por otro lado se tienen problemas fitosanitarios al momento de sembrar el material, pues el rizoma es atacado por un complejo de patógenos, lo cual ocasiona grandes pérdidas (3), (15).

## 2.3. Cultivo in vitro

### 2.3.1. Generalidades

Desde hace más de 120 años en las investigaciones de fisiología vegetal se ha utilizado la técnica de cultivo de tejidos, órganos y células vegetales, que consiste en cultivar en medios nutritivos adecuados y en forma aséptica, ápices de raíz y tallo, primordios de hoja, primordios o partes inmaduras de flores, frutos inmaduros, segmentos de tallo y hoja y algunas veces ovarios, óvulos, anteras, polen, células aisladas y protoplastos (2), (10), (18).

El uso de las técnicas de cultivo in vitro para su éxito requiere de factores de importancia, entre los cuales se encuentran la indentificación del inóculo adecuado y las condiciones físico-ambientales en las cuales se va a incubar éste, el uso de un medio nutritivo específico de acuerdo a la especie, el tejido u órgano que se va a cultivar, el propósito del experimento o a la etapa de desarrollo que se persiga, el medio hormonal balanceado que permita la obtención y multiplicación de las plantas (18), (24), (26).

El proceso de multiplicación in vitro requiere del estudio experimental de cuatro fases: La fase 1 es la de establecimiento del cultivo aséptico del inóculo; la fase 2 es la multiplicación

del material; fase 3 que corresponde al enraizamiento y preparación de las plántulas para su transferencia a condiciones no asépticas y la fase 4 que es la preparación o preadaptación de las plantas para su trasplante a suelo antes de su establecimiento, en esta fase se presenta el cambio del estado heterotrófico al autotrófico de las plantas obtenidas. Generalmente, durante esta fase, es necesario reducir la concentración de sales inorgánicas y la de carbohidratos para que la planta empiece a fotosintetizar por sí misma estos nutrientes necesarios para su completo desarrollo (23), (28), (29).

La aplicación de esta técnica resulta considerablemente ventajosa en la clonación de plantas comparada con el uso de los métodos convencionales, ya que permite acelerar las tasas de multiplicación en menor tiempo (2), (18), (23), (29).

Murashige (1978) menciona tres categorías generales del cultivo de tejidos vegetales relacionados a actividades agrícolas: a) es importante en los programas de mejoramiento genético por que acelera la disponibilidad de nuevas variedades; b) es útil en la conservación de germoplasma; c) se utiliza en la obtención de plantas libres de enfermedades y d) permite incrementar notablemente el rango de multiplicación de cultivares.

Esta técnica debe usarse con precaución en cuanto a las dificultades en la producción de plantas tipo, ya que algunas plantas obtenidas a través de esta técnica han mostrado variación genética y la incidencia de plantas aberrantes se ha observado que se incrementa con repetidos subcultivos y al mantener el material in vitro por mucho tiempo (23).

En los últimos 15 años, se ha observado una rápida expansión en el uso de la técnica de cultivo de tejidos para la propagación clonal de diversos cultivos ornamentales. Muchas de las plantas de interiores como helechos, bromeliáceas, plantas de follaje y ciertas especies de arbustos han sido propagadas por cultivo de tejidos (3), (17), (18), (20).

Durante un primer período de la historia de cultivo de tejidos vegetales, el número de especies de monocotiledóneas cultivadas con éxito ha sido relativamente pequeño. Gautheret (1954) menciona 9 especies de monocotiledóneas por 56 especies de dicotiledóneas (18).

La clase monocotiledónea (más de 64,000 especies) comprende cerca de la tercera parte de las angiospermas, y algunas familias (Gramíneas, Liliáceas, Orquidáceas, Palmeras) presentan una gran importancia económica (18).

Se puede dudar si las monocotiledóneas, poseen o no, en conjunto, diferentes potencialidades que las dicotiledóneas en relación con la callogénesis y la organogénesis. Esas diferencias, caso que existan, podrían situarse al nivel del metabolismo o en el de las estructuras anatómicas ausencia de un cambium interfascicular en las monocotiledóneas (18).

Sin embargo, algunas monocotiledóneas presentan una gran aptitud para la brotación, pero esta aptitud parece localizada sobre todo en la familia de las Liliáceas o en familias próximas (Agaváceas y Amaralidáceas). En diversas especies, en especial la Sansevieria, las colonias tisulares, salidas de fragmentos de hojas, forman rápidamente meristemas primarios de raíz. La callogénesis podría derivar entonces de una perturbación de la organogénesis de los meristemas primarios, constituyendo un carácter distintivo de las monocotiledóneas ésta tendencia de los tejidos neoformados a evolucionar rápidamente hacia el estado meristemático primario (18).

Las exigencias de los tejidos de las monocotiledóneas relativas a la nutrición mineral y a los reguladores de crecimiento, parecen ser comparables en todo con las de las dicotiledóneas (18).

La principal diferencia, si es que realmente existe, podría provenir de la tendencia frecuentemente hallada hacia la formación acelerada de meristemas radiculares y a su desorganización en callos (18).

### 2.3.2. Mecanismos de morfogénesis

La morfogénesis es el estudio de los procesos involucrados paso a paso entre una forma no diferenciada y un estado diferenciado como un proceso particular en la regeneración de las plantas, presentando dos mecanismos: a) la embriogénesis, que es el proceso mediante el cuál se desarrolla un embrión gracias al acto de fertilización, sin embargo la fertilización no siempre es esencial para que la célula huevo o cigoto sufra la embriogénesis y b) la organogénesis, que es proceso en el cuál se pueden diferenciar in vitro brotes adventicios, que son susceptibles de enraizar y formar plantas completas. Las dos, pueden llegar a ser inducidas de manera directa o indirecta. En la primera los tallos, raíces, embriones o estructuras embrionarias, son regenerados directamente del tejido puesto en cultivo sin pasar por la formación previa de callo (iniciación directa de tallos, embriogénesis somática directa); La segunda se realiza a través de una proliferación celular y siendo transferido regularmente, se impide su dediferenciación. Pero bajo ciertas condiciones fisiológicas y del medio, se puede inducir la formación de estructuras organizadas que regeneran

plantas. Los procesos más comunes: Iniciación indirecta de tallos a partir de callo, inducción indirecta de embriogénesis de callo formado (6), (8), (18), (27).

### 2.3.3. Cultivo in vitro vía formación de brotes a partir de segmentos nodales

Con este nombre se conoce al aislamiento de una yema junto con una porción de tallo, para obtener un vástago a partir de la yema. Este es el método más natural de propagación vegetativa de las plantas in vitro, ya que también puede aplicarse in vivo. Cada una de las yemas que se encuentra en las axilas de las hojas, idénticas a las del ápice del tallo, pueden ser aisladas sobre un medio nutritivo, intentándose así su desarrollo in vitro, realizándose los repicados cuando sea necesario. Cuando se obtiene un número suficientemente grande de brotes, estos son enraizados y finalmente se realiza la transferencia al suelo. Cuando se aplica éste método se deben tener en cuenta los siguientes puntos:

1. El aislamiento por este método es prácticamente imposible cuando se trata de plantas en roseta (como Bromeliáceas, gerbera, etc.) y cuando las posibilidades de infección son altas.

2. Para reducir las posibilidades de infección es mejor aislar yemas cerradas. En el caso de que existan infecciones internas este método es impracticable, siendo necesario acudir al cultivo de meristemas.

3. La velocidad de propagación depende del número de yemas disponibles; si éste número es pequeño la velocidad de multiplicación resultará lenta. Cuantas más hojas se originen, habrá mayor número de yemas disponibles y, por lo tanto, la propagación será más rápida (26).

#### 2.3.4. Factores que intervienen en el cultivo in vitro.

##### 2.3.4.1. Selección del inóculo

Se denomina inóculo o explante a la pequeña porción de tejido de la planta utilizada para iniciar un cultivo in vitro (9), (29).

Todas las células vegetales tienen la aptitud potencial de dividirse y crear un nuevo individuo completo y semejante al que se le tomó la muestra, a ésta capacidad se le conoce como totipotencia celular. Resulta importante y conveniente la selección de un grupo de células a usar como inóculo, para que sean capaces de reaccionar bajo las condiciones de cultivo y permitir así la multiplicación vegetativa (9), (10), (22), (29).

Para seleccionar un explante adecuado se deben considerar los siguientes aspectos: a) el órgano que va a servir como fuente donadora del tejido; b) la edad y el estado fisiológico del

órgano; c) la estación en la cual se obtendrá el inóculo; d) el tamaño del explante; y e) el origen y calidad de la planta de la cual se obtendrá el explante (2), (22), (29).

#### 2.3.4.2. Medio de cultivo

La composición del medio de cultivo es importante en el establecimiento del inóculo in vitro. Cada tipo de tejido requiere de una formulación diferente, dependiendo del objetivo que se persiga. Los medios de cultivo están constituidos por un balance de macronutrientes requeridos en grandes cantidades por las plantas como son el nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y azufre; otros nutrientes son requeridos en pequeñas cantidades, llamados micronutrientes siendo: cloro, níquel, aluminio, entre otros. El hierro es un elemento esencial mientras que los otros son adicionados como medida de precaución ya que se desconoce o se sabe muy poco de su influencia en el crecimiento de los tejidos (11), (26), (29).

La sacarosa es la fuente carbohidratada de mayor uso en los cultivos, aunque en ciertos casos se recomiendan otros azúcares como la glucosa o la fructosa. Esto depende del cultivo y la especie. Las vitaminas que se añaden a los medios pertenecen al complejo B (tiamina, ácido nicotínico, piridoxina y el mio-inositol) de ellas la tiamina es esencial. El mio-inositol, aunque es sustancia de tipo carbohidrato, con frecuencia se le considera como una vitamina, esta aunque mejora el crecimiento de

los tejidos no parece ser esencial. Los aminoácidos son el otro grupo de sustancias orgánicas que algunos tejidos o células de ciertas especies requieren, a veces se agregan como caseína hidrolizada o bien se agregan los isómeros -L de asparagina, glutamina, arginina, ácido aspártico, ácido glutámico y tirosina, solos o combinados (11), (26), (28), (29).

Algunos productos naturales complejos suelen agregarse con la finalidad de enriquecer el medio de cultivo o favorecer una determinada respuesta en el inóculo, algunos de éstos son: agua de coco, jugo de tomate, de naranja y otros extractos de plantas así como levaduras (24), (29).

La función primaria del mayor número de los componentes del medio es nutrimental, es decir suministran energía o sirven de materia prima para la construcción de otras moléculas esenciales para las células de las plantas. (26), (29).

#### 2.3.4.3. Reguladores de crecimiento

Los reguladores de crecimiento son compuestos orgánicos distintos de los nutrientes, que en pequeñas cantidades estimulan, inhiben o modifican de algún modo cualquier proceso fisiológico en las plantas. Pueden ser de naturaleza endógena es decir que son sintetizados por el propio vegetal o sintéticos (exógenos) (11), (26), (28), (29).

La actividad de los reguladores de crecimiento exógenos depende estrechamente, de las condiciones de aplicación, el tipo y concentración que se utilice, del estado fisiológico de la planta tratada y de los fenómenos de interacción que entre ellos ocurra (11), (29).

Los principios de la técnica de cultivo in vitro, así como su desarrollo posterior, rebasan en parte en el conocimiento y utilización de las auxinas. La expresión actual de las investigaciones sobre la organogénesis y las aplicaciones a la multiplicación vegetativa está ampliamente ligada a la utilización conjunta o secuencial de auxinas y citocininas. Teniéndose en algunos casos, donde el inóculo empleado puede producir suficiente cantidad de alguna de estas dos hormonas, no precisando de ninguna adición exógena para obtener una respuesta favorable. Consecuentemente, para la multiplicación de brotes la presencia de una auxina en el medio no es obligatoria, en la mayoría de los casos una citocinina sola es suficiente para inducir la multiplicación de brotes. La importancia de las giberelinas en cultivo in vitro parece ser menor. El ABA y los compuestos que desprenden etileno solamente se han utilizado en algún caso excepcional (28), (26), (31).

Los reguladores de crecimiento presentan características que en ocasiones suelen ser comunes: actúan en bajas concentraciones, pues en altas resultan ser tóxicos; solo interactúan con otros

reguladores; intervienen en muchos procesos fisiológicos, es decir no son específicos; los reguladores endógenos son metabolizados por la maquinaria celular y son controlados rápidamente o eliminados mientras que los exógenos actúan durante más tiempo. Los reguladores más importantes en el cultivo in vitro son las auxinas y las citocininas (29).

**Auxinas.** Es muy importante la elección de la auxina estando supedita de acuerdo al objetivo del cultivo. Las auxinas más ampliamente usadas en cultivo in vitro son: el ácido indolpropiónico (AIA), el ácido indolacético (AIA) y el ácido indolbutírico, consideradas como débiles; el ácido naftalenacético (ANA), el ácido B-naftoxiacético (NOA) y el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) consideradas auxinas fuertes (11), (18), (26), (29).

Las principales funciones de las auxinas en el desarrollo de tejidos in vitro son: La elongación celular y expansión de los tejidos, división celular (formación de callo), acción rizogénica, inhibición de la formación de vástagos axilares y adventicios, y frecuentemente embriogénesis en los cultivos en suspensión (26), (29).

El ANA es considerada una auxina fuerte, muy estable, utilizada especialmente para provocar la rizogénesis (26).

Citocininas. Las citocininas empleadas más comunmente en cultivo in vitro son: la bencilaminopurina (BA), la cinetina (K), la purina (2iP) y la zeatina de origen natural. De ellas, la bencilaminopurina es la que se emplea con frecuencia debido a su gran actividad y su bajo costo (11), (18), (26), (29).

Las citocininas desempeñan un papel muy importante en el campo del cultivo in vitro. Han permitido grandes avances en la multiplicación vegetativa, ya que mantienen con vida a la célula; estimulan la división celular; promueven la orientación de las células en la vía de la desdiferenciación promoviendo la organogénesis, en la que brindan estimulación considerable a la formación de brotes axilares debido a que disminuyen la dominancia apical; son antagónicas en la rizogénesis (26), (28), (29).

#### 2.3.4.4. Condiciones de cultivo

El metabolismo de los tejidos del inóculo, se pueden modificar por completo si se establecen en un medio líquido o sólido; en éste último la concentración de agar y su calidad pueden tener efectos claros en función del tipo de inóculo y del pH, generalmente se ajusta entre 5.5 a 5.8, aunque debe tomarse en cuenta que disminuye con el transcurso del tiempo de cultivo (24), (29).

Los principales factores del medio ambiente son la luz y la temperatura, con respecto a la luz hay que considerar la intensidad lumínica comunmente de 3000 a 5000 lux y con una duración de 16 a 18 h/día, generalmente proporcionada por tubos de luz fluorescente blanca; aunque algunas veces se completa con lámparas incandescentes. Existen algunos trabajos en los cuales se demuestran que ciertas longitudes de onda, pueden activar ciertos fitocromos y que éstos pueden inducir respuestas morfogénéticas. La temperatura se establece entre los 22 a 23 grados centigrados, pero debe tomarse en cuenta si la especie en estudio es proveniente de clima templado o tropical, por lo que entonces se recomiendan temperaturas de 20 a 25 grados centigrados más-menos 1 grado centigrado, respectivamente (2), (26), (29).

### **3. MATERIALES Y METODOS**

El presente trabajo fue realizado en el laboratorio de embriogénesis del Centro de Fruticultura del Colegio de Postgraduados, Chapingo, Estado de México.

#### **3.1. Establecimiento del cultivo aséptico**

##### **3.1.1. Obtención del inóculo**

Las plantas a utilizar fueron traídas de invernadero. Los tallos son separados de la planta y desprovistos de todas sus hojas, lavandolos con agua potable y un detergente comercial, posteriormente son enjuagados con agua potable hasta eliminar los residuos del detergente.

El tallo es seccionado en rodajas conservando la yema en el caso de los nudos.

##### **3.1.2. Desinfección y siembra**

Las rodajas de tallo con yema se desinfectaron por inmersión en etanol al 70% durante 30 segundos. Posteriormente son sumergidas en una solución de cloruro de mercurio al 5% más dos gotas de tween 20 por 3 minutos, enjuagandolas con agua potable por 10 minutos; seguidamente son sumergidas en una solución de

hipoclorito de sodio al 1% más dos gotas de tween 20 por 15 minutos siendo enjuagadas tres veces al término de este tiempo con agua destilada esterilizada. Finalmente se volvieron a sumergir en una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% por tiempos de 5 y 10 minutos, enjuagando tres veces con agua destilada esterilizada una vez cumplido cada tiempo. A partir de la desinfección del inóculo en hipoclorito de sodio al 1% el material vegetativo se manejo bajo condiciones asépticas en una cámara de flujo laminar.

Las rodajas son colocadas conservando su polaridad en tubos de ensaye (120 x 25 mm.) conteniendo 10 ml. del medio de cultivo.

Los tubos con los inóculos se colocaron en un cuarto de incubación, los primeros catorce días se mantuvieron en obscuridad, para despues mantenerlos con una intensidad de iluminación de 5000 lux proporcionada por lámparas de luz blanca fluorescente en forma continua, con una temperatura constante de 25 grados centigrados más-menos 1 grado centigrado.

### 3.1.3. Medio de cultivo

Para la preparación del medio de cultivo de los experimentos realizados, se tomaron como base las sales minerales del medio de Murashige y Skoog (1962), cuya composición se da en el cuadro 1.

**Cuadro 1.** Medio de cultivo de Murashige & Skoog <1962>. Soluciones concentradas.

SALES INORGANICAS			
MACROELEMENTOS (mg/L)		MICROELEMENTOS (mg/L)	
$KNO_3$	1900	$Mn SO_4 \cdot H_2O$	16.9
$NH_4NO_3$	1650	$H_3BO_3$	6.2
$Ca Cl_2 \cdot 2 H_2O$	440	$Zn SO_4 \cdot 7 H_2O$	8.5
$Mg SO_4 \cdot 7 H_2O$	370	KI	8.83
$KH_2PO_4$	170	$Na_2 MoO_4 \cdot 2H_2O$	8.25
$Na_2EDTA$	74.50	$Cu SO_4 \cdot 5H_2O$	8.825
$Fe SO_4 \cdot 7H_2O$	55.60	$Co Cl_2 \cdot 6H_2O$	8.825
COMPUESTOS ORGANICOS			
Ac. nicotínico	8.5 mg/l	Mio-inositol	100 mg/l
Glicina	2.8 mg/l	Tianina HCL	8.1 mg/l
Piridoxina HCL	8.5 mg/l	Sacarosa	30 g/L
		Agar	7.5 g/L

La esterilización de los medios de cultivo se realizó en la autoclave a 121 grados centígrados y a 1.14 kg/cm<sup>2</sup> de presión durante 15 minutos. El pH fué ajustado a 5.7 con Na OH y HCl al 0.1N. La sacarosa fué agregada a una concentración de 30 gl-1, mientras que la cantidad de agar fué de 7.5 gl-1.

#### 3.1.4. Reguladores de crecimiento

Para esta fase , en el experimento uno, el medio de cultivo (M.S) fué adicionado con la combinación ANA/K, probando cinco concentraciones para ambos reguladores: 0.0, 0.1, 0.3, 0.5 y 1.0 mg/l, haciendo un total de 25 tratamientos con dos repeticiones por tratamiento (cuadro 2).

En el segundo experimento se empleó la combinación ANA//BA, probando las mismas concentraciones en ambos reguladores, teniendo un total de 25 tratamientos con dos repeticiones por tratamiento (cuadro 3).

Las concentraciones aplicadas fueron determinadas en base a los parámetros señalados como mejores por la literatura.

**Cuadro 2.** Combinación ANA y K adicionadas al medio de cultivo (M-S) en la fase de establecimiento.

ANA	K	0.0	0.1	0.3	0.5	1.0 (ng/l)
0.0		1	2	3	4	5
0.1		6	7	8	9	10
0.3		11	12	13	14	15
0.5		16	17	18	19	20
1.0		21	22	23	24	25
(ng/l)						

**Cuadro 3.** Combinación ANA y BA (mg/l) adicionadas al medio de cultivo (M.S) para inducir el desarrollo y crecimiento de las yemas en la fase de establecimiento.

ANA	BA	0.0	0.1	0.3	0.5	1.0 (mg/l)
0.0		1	2	3	4	5
0.1		6	7	8	9	10
0.3		11	12	13	14	15
0.5		16	17	18	19	20
1.0		21	22	23	24	25
(mg/l)						

### 3.2. Multiplicación del inóculo

Los tallos de las plantas obtenidas en el establecimiento del cultivo aséptico fueron seccionados para ser empleados como inóculo en esta fase, sembrandolos en el medio M:S complementado en el experimento uno con 0.3, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 mg/l de K (cuadro 4); y con las concentraciones 0.1, 0.3, 0.5 y 1.0 mg/l de BA combinando las tres primeras con la concentración 0.1 mg/l de ANA (cuadro 5). En ambos casos los inóculos se sembraron en frascos gerber, que contenían 20 ml. del medio, teniendo 2 repeticiones por tratamiento.

Los frascos se mantuvieron bajo las condiciones del cuarto de incubación ya antes mencionadas.

### 3.3. Enraizamiento de brotes.

Para esta fase no hubo necesidad de emplear un medio inductor para la formación de raíz en las plántulas obtenidas. En ambas combinaciones se observó la formación de raíces una vez desarrolladas las primeras hojas. Esta fase no fué considerada para realizarle un análisis estadístico, ya que los tratamientos no difirieron en tiempo, número y longitud de la raíz.

**Cuadro 4.** Concentraciones de K adicionadas al medio de cultivo M.S. para inducir la multiplicación del inóculo.

K	0.3	0.5	1.0	1.5	2.0 (mg/l)
TRATS.	1	2	3	4	5

**Cuadro 5.** Concentraciones de ANA/BA adicionadas al medio de cultivo M.S. para inducir la multiplicación del inóculo.

ANA\BA	0.1	0.3	0.5	1.0
0.0	1	2	3	4
0.1	5	6	7	8

### 3.4. Análisis estadístico

#### 3.4.1. Toma de datos

Después de transcurridos los catorce días en obscuridad, las observaciones y la toma de datos se efectuaron semanalmente, tomándose los parámetros siguientes:

▪ **Tiempo de inicio de formación.** Esta variable se midió en semanas una vez cumplidos los 14 días que permanecieron los tratamientos en obscuridad hasta el momento en el que el domo se diferenció en la superficie del callo formado previamente.

▪ **Número de brotes producidos.** Para cuantificar el promedio de brotes producidos por tratamiento solo se tomaron en cuenta los domos que se diferenciaron y originaron posteriormente tallos.

▪ **Longitud de brotes.** Esta variable se midió de la parte basal de la planta hasta el lugar donde se origina la yema apical. Tomando esta variable pasadas cuatro semanas de que los brotes se diferenciaron.

#### 3.4.2. Diseño experimental

Con los datos obtenidos en la fase de multiplicación del inóculo se realizó el análisis estadístico. En el experimento uno donde se emplearon diferentes concentraciones de K (cuadro 4), se empleó un diseño completamente al azar teniendo un total de cinco

tratamientos con dos repeticiones en cada uno de ellos, empleando el mismo diseño en el experimento dos en donde se adicionaron diferentes concentraciones de ANA/BA (cuadro 5) teniéndose un total de siete tratamientos con dos repeticiones en cada tratamiento, excluyendo el tratamiento 8 en este caso ya que no se obtuvo respuesta, realizándose el análisis estadístico solo a siete tratamientos antes mencionados.

Para la comparación de medias en ambos experimentos se empleó la prueba de Tukey a un nivel de significancia del 5 %

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Establecimiento del cultivo aséptico

#### 4.1.1. Desinfestación y medio de cultivo

El procedimiento de desinfección del inóculo resultó ser efectivo en un 94.4% en la combinación ANA/K y del 96% en la combinación ANA/BA, teniéndose un porcentaje del 100% en la supervivencia del inóculo en ambos casos.

Con respecto al medio empleado (M.S) se observó una respuesta favorable en el establecimiento, inducción y crecimiento de los brotes, así como en la formación de raíz.

Estos resultados son similares a los que menciona Debergh y Maene (1990) para la desinfección del inóculo empleado (segmentos nodales y apicales) donde reportan obtener un porcentaje elevado de aséptica. Por otro lado mencionan que el explante presenta una respuesta favorable al ser cultivado sobre el medio básico de Murashige & Skoog (1964), el mismo que ha probado ser satisfactorio para el cultivo in vitro de muchas especies, haciendo énfasis que es empleado principalmente para la iniciación y multiplicación de brotes.

Se encontró que los segmentos nodales más próximos al meristemo apical fueron los que presentaron una mejor respuesta, mientras que al emplear segmentos de hoja no se presenta respuesta alguna.

#### 4.1.2. Respuesta obtenida en el inóculo con las diferentes concentraciones de los reguladores de crecimiento empleados.

La acción de las diferentes concentraciones en las que se aplica el ácido naftalenácetico (ANA) en combinación con la cinetina (K) y la bencilaminopurina (BA) en la fase de establecimiento, mostraron diferentes respuestas sobre los inóculos. Observándose que se presentaba una mejor respuesta en relación al crecimiento y desarrollo de las yemas cuando solo se adicionó al medio de cultivo la hormona K en concentraciones de 0.3, 0.5 y 1.0 mg/l y 0.3 , 0.5 mg/l de BA, que en donde las demás concentraciones de citocininas se combinaron con auxina, obteniendo con ello solo un brote por inóculo, y plantas de 3 a 4.5 cms. de longitud en los tratamientos con K en un tiempo de 5 semanas y de 5 a 6 cms. de longitud en los tratamientos con BA en un tiempo de 5 semanas de iniciado el cultivo.

Esto resulta ser similar a lo que Conger (1980) menciona: al emplear yemas axilares y apicales estas pueden ser inducidas a desarrollarse en condiciones in vitro y obtener con ello solo un brote. El tallo que es obtenido asépticamente se puede volver a

fraccionar para que cada segmento nodal origine una nueva planta, y esta a su vez sufra el mismo proceso, incrementándose la población de forma considerable cada determinado período.

Cuando las diferentes concentraciones de cinetina (K) y bencilaminopurina (BA) empleadas en los dos experimentos, se combinaron con 0.1 mg/l de ácido naftalenacético (ANA), se observó en los diferentes tratamientos la formación de un callo de color blanco algodonoso localizado en la periferia del entrenudo o en la parte basal de la mayoría de los inóculos, donde posteriormente se originarían primordios de raíz, teniendo un desarrollo relativamente más rápido en comparación de aquellos tratamientos donde no se adicionó auxina pero se presentó rizogénesis.

En los tratamientos donde las concentraciones de K y BA se combinaron con 0.3 mg/l de ANA, se observó la formación de un callo con las mismas características antes mencionadas, solamente que éste terminó oxidándose, siendo más temprana la oxidación en la combinación ANA/K. Mientras que los tratamientos donde se adicionó las concentraciones de 0.5 y 1.0 mg/l de ANA resultaron ser tóxicas para el inóculo ya que no mostraron respuesta alguna.

## 4.2. Multiplicación del inóculo

### 4.2.1. Tiempo de inicio de formación.

La respuesta observada inicialmente al final de la primer semana de establecido el cultivo en los tratamientos de ambos experimentos, fué el aumento en volúmen de las yemas, generalizándose después en toda la periferia del entrenudo. Después de ello, comenzó a formarse un callo localizándose en todos los casos en la periferia de la yema, presentando un color verde intenso y una forma irregular pero compacta, observándose posteriormente la presencia de domos sobre la superficie del mismo presentandose una diferencia de 1.5 semanas entre los dos experimentos.

En los tratamientos donde se empleó la K, el tiempo de formación de los domos se presentó a las 5.5 semanas de iniciado el cultivo; mientras que en el experimento dos esta respuesta se Opresentó a las 4 semanas en los tratamientos con las concentraciones de 0.1, 0.3, 0.5 y 1.0 mg/l únicamente de BA, resultando ser más temprana en comparación a la anterior y donde la BA se combinó con 0.1 mg/l de ANA cuyo tiempo en que se presentó la formación de los domos fue de 5.5 semanas, ver cuadro 6 y 11.

**Cuadro 6.** Respuesta de los inóculos de Cordyline terminalis cultivados en el medio M.S adicionado con K en la fase de multiplicación.

TRATAMIENTOS		TIEMPO DE INICIO DE FORMACION (semanas)	No. BROTES PRODUCIDOS ( $\bar{x}$ )	LONGITUD DE PLANTA (cms.) *
No.	K			
1	0.3	4 - 5	1.00	1.75
2	0.5	4 - 5	5.00	1.24
3	1.0	4 - 5	2.45	0.30
4	1.5	4 - 5	1.00	1.20
5	2.0	4 - 5	1.00	1.20

\* Variable tomada después de 9 semanas de iniciado el cultivo.

Cuadro 7. Respuesta de los inóculos de Cordyline terminalis cultivados en el medio M-5 -  
adicionado con la combinación ANA/BA.

No.	TRATAMIENTOS		TIEMPO DE INICIO DE FORMACION (semanas)	No. BROTES PRODUCIDOS ( $\bar{x}$ )	LONGITUD DE PLANTA (cms.) *
	ANA	BA			
1	0.0	0.1	4.0	1.0	5.50
2	0.0	0.3	4.0	27.0	1.62
3	0.0	0.5	4.0	10.0	1.30
4	0.0	1.0	5-6	1.0	0.90
5	0.1	0.1	5-6	4.0	0.35
6	0.1	0.5	5-6	9.0	1.00
7	0.1	1.0	5-6	2.0	2.0

\* Variable tomada después de 8-9 semanas de iniciado el cultivo

Evaldsson (1985) y Welander (1988) reportan un tiempo de 4 a 5 semanas en la inducción de brotes en explantes de Cordyline terminalis, empleando el medio M.S adicionado con 0.3 y 0.5 mg/l de BA; y un tiempo de 6 semanas cuando se aplican las mismas concentraciones pero de K (Paek 1985).

#### 4.2.2. Número de brotes producidos.

Estadísticamente esta variable presentó diferencias altamente significativas en el análisis de varianza realizado al experimento uno (cuadro 8) y experimento dos (cuadro 12).

La comparación de medias del primer experimento (cuadro 9), mostró que la concentración 0.5 mg/l de K fué significativamente superior al resto de los tratamientos probados con un promedio de 5 brotes, siguiéndole el tratamiento 3 con 1.0 mg/l de K y un promedio de de 2.45 brotes, siendo a su vez estadísticamente igual a los tres tatamientos restantes donde solo se presentó un brote.

La comparación de medias realizado al experimento dos (cuadro 13), mostró que la concentración 0.3 mg/l de BA fue superior estadísticamente a los demás tratamientos con un promedio de 27 brotes, siguiéndole el tratamiento que contenía la concentración de 0.5 mg/l de BA presentando un promedio de 18 brotes y el tratamiento con 0.1 mg/l de ANA + 0.3 mg/l de BA con

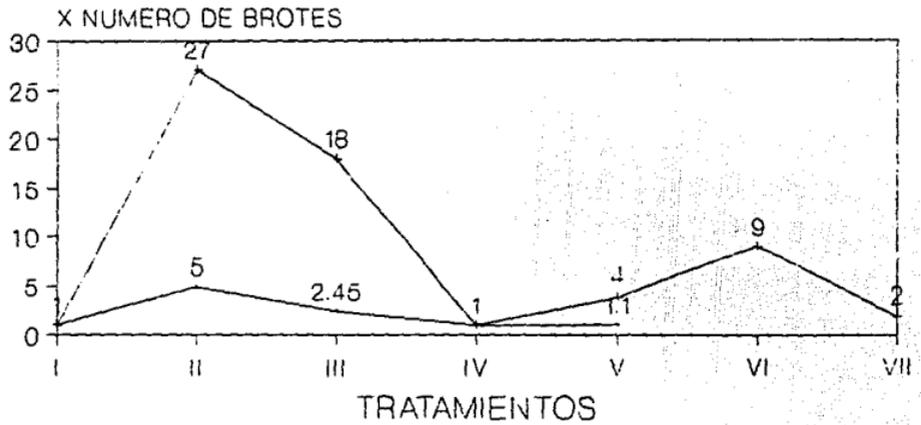
un promedio de 9 brotes, sin embargo se observó que los brotes de este tratamiento presentaban un color más claro y con un crecimiento raquítrico.

El promedio de brotes obtenido en los dos tratamientos (Fig.1) nos muestra la superioridad de parte de los tratamientos donde el medio de cultivo fué adicionado solamente con la bencilaminopurina (BA) a una concentración de 0.3 mg/l produciendo un promedio de 27 brotes y con 0.5 mg/l con 18 brotes formados, en comparación a los 5 brotes promedio formados en el tratameinto con la concentración de 0.5 mg/l de K y 2.45 Brotes con la concentración de 1.0 mg/l.

Asimismo se puede observar que al emplear la concentración 0.1 mg/l de ANA + 0.3 mg/l de BA el promedio de brotes superó a los tratamientos donde se empleó la K (experimento uno), pero a su vez este promedio fue inferior al obtenido en los tratamientos donde solo se adicionó al medio de cultivo BA, mostrando con ello que la acción independiente de la citocinina favorece mejor el número y calidad de los brotes obtenidos.

Estos resultados muestran que dependiendo del tipo y concentraciones de las citocininas empleadas: K y BA, así como al combinar en esta segunda la concentración 0.1 mg/l de ANA el promedio y la calidad de los brotes obtenidos se ve incrementada o reducida, presentándose una mejor respuesta cuando solo se

# COMPARACION DE LOS X OBTENIDOS EN LA VARIABLE No. DE BROTES EN LOS EXP. 1 Y 2



— EXP. 1 M.S. + K    - - - EXP. 2 M.S. + ANA/BA

adiciona al medio la bencialeminopurina (BA), resultando más efectiva para estimular la producción y elongación de los brotes y obtener brotes de mejor vigor.

Evaldsson (1985) y Welander (1988) al emplear la BA en una concentración de 0.3 mg/l obtienen un promedio de 30 brotes, decreciendo a 10 brotes cuando emplean la concentración de 0.5 mg/l de K (Paek, 1985).

#### 4.2.3. Longitud de los brotes

El análisis de varianza para esta variable mostró diferencias estadísticas altamente significativas en los tratameintos del experimento uno (cuadro 10) y dos (cuadro 14).

La comparacion de medias en el primer experimento (cuadro 11) indicó que el tratamiento con la concentración 0.3 mg/l de K presentó los brotes de mayor longitud (1.75 cm,) en este caso únicamente se presentó el desarrollo y crecimiento de las yemas, siguiendole el tratamiento con la concentración 0.5 mg/l donde se formaron 5 brotes de 1.24 cms. de longitud, presentando una diferencia de solo 0.51 cms. El mínimo crecimiento fue para la dosis de 1.0 mg/l con un promedio de 0.30 cms. ocupando el segundo lugar en cuanto al promedio de brotes obtenidos, teniendo una diferncia de 1.45 cms. con respecto al primer tratamiento y de 0.94 con el anterior.

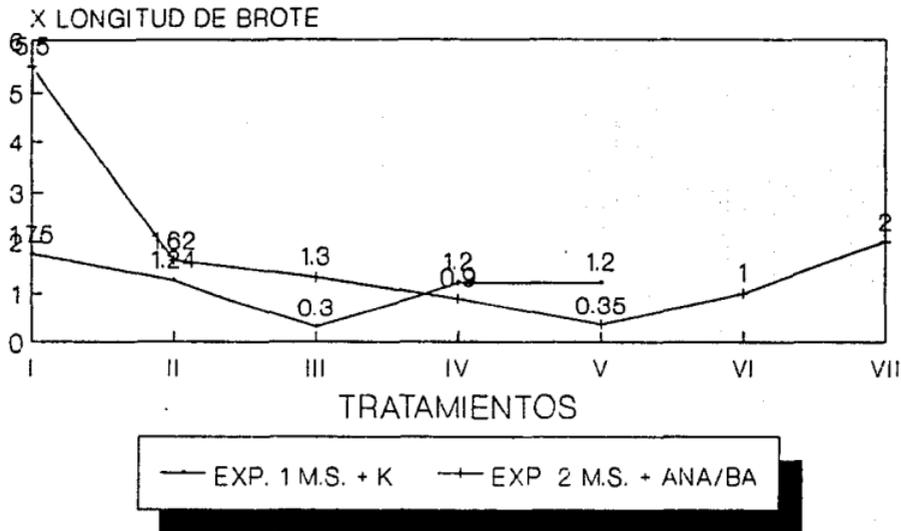
Al realizar la comparación de medias al segundo experimento (cuadro 15), mostró que el tratamiento con 0.1 mg/l de BA resultó ser el que presentó la mayor longitud de brotes, con 5.5 cms. pero al igual que en experimento uno solo se presentó el crecimiento y desarrollo de las yemas presentando un brote por inóculo; siguiéndole el tratamiento con la concentración 0.1 mg/l de ANA + 0.3 mg/l de BA que resultó ser estadísticamente igual al tratamiento con la concentración 0.3 mg/l de BA con una longitud promedio de brotes de 2.0 y 1.62 cms. presentando a su vez el mayor promedio de brotes formados con 7 y 27 brotes respectivamente, observando una diferencia de longitud de solo 0.38 cms. entre ambos, pero a su vez los brotes obtenidos en la combinación ANA/BA resultaron ser muy delgados originando posteriormente plantas de tallos muy raquíticos y en los cuales se observó la formación de raíces al mismo tiempo que la elongación de los brotes a diferencia del otro tratamiento en comparación, donde los brotes tenían un color verde intenso los mismos que originaron plantas con tallos muy vigorosos, pero con la formación de raíces más tardía (5-6 días) en comparación con los tratamientos donde se adiciona ANA. Este último tratamiento no presentó diferencias con el tratamiento con la concentración 0.5 mg/l de BA que presentó una longitud promedio de 1.30 cms. siendo este tratamiento el que ocupa el segundo lugar en el promedio de brotes obtenidos (18). La longitud menor se presentó en la concentración 0.1 mg/l de ANA + 0.1 mg/l de BA con 0.35 cms. y con un promedio de 4 brotes los que presentaron las mismas características que en tratamiento anteriormente mencionado.

Al comparar las longitudes de los brotes en ambos tratamientos (Figura 2.) se puede observar que los brotes presentan la mayor longitud cuando se emplea la bencilaminopurina que con la cinetina, observándose en ambos casos que conforme se incrementa la concentración de la citocicina se presenta un decremento en la longitud de los brotes, contrario a lo que se observa cuando la BA es combinada con 0.1 mg/l de ANA, ya al incrementarse la concentración de BA se incrementa la longitud de los brotes pero se reduce la calidad de los mismos, obteniéndose brotes muy delgados y de un color verde claro los que originan plantas de poco vigor.

La mayor cantidad así como los mejores brotes se registraron con la concentración 0.3 mg/l de bencilaminopurina (BA).

De manera semejante Evaldsson (1985) y Welander (1988), mencionan que el suministro de BA es indispensable para la inducción y elongación de brotes, obteniendo longitudes de 5 cm. aplicando la concentración de 0.3 mg/l. Paek (1985) obtuvo una elongación de brotes de 2-3 cms. aplicando la concentración de 1.0 mg/l de K.

# COMPARACION DE LOS $\bar{x}$ OBTENIDOS EN LA VARIABLE LONGITUD DE BROTES EN LOS EXP. 1 Y 2



## 5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran que es posible la obtención de plantas de Cordyline terminalis por cultivo in vitro a partir de segmentos nodales, empleándose para ello la metodología propuesta.

El alto porcentaje registrado de aséptica (94.4 y 96%), nos indicó que el manejo del inóculo así como la metodología empleada para la desinfección del mismo fué adecuada.

De los dos tipos de citocininas probados en este trabajo cinetina (K) y bencilaminopurina (BA), los mejores resultados se presentaron al emplear la bencilaminopurina, observándose que la acción independiente de la citocinina mejora los resultados en la multiplicación de los inóculos.

La comparación de los tratamientos empleados para la multiplicación del inóculo permitió determinar que el tratamiento suplementado con 0.3 mg/l de BA resultó ser el mejor, obteniéndose en el mismo el mayor promedio de brotes (27) por tratamiento, además de presentar uno de los mayores promedios en la longitud de los brotes con 1.62 cms., y uno de los tiempos más cortos (4 semanas) en inicio de brotación.

El nivel endógeno de auxina presentado en el inóculo resultó ser suficiente para inducir la rizogénesis en aquellos tratamientos donde no se adicionaba al medio de cultivo auxina, presentándose una respuesta más temprana cuando las concentraciones de BA se combinaron con 0.1m/l de ANA, por lo tanto solo faltaria acortar el tiempo para inducir la rizogénesis.

## 6. BIBLIOGRAFIA

1. Beruto, M., Curir, P., Giusta, R. y Lercari, G. B. 1985. The in vitro propagation Cordyline terminalis L. cv. Calipso. Instituto Sperimentale per le Floriculture. 14(1):37-46.
2. Conger, B. U. 1980. Cloning Agricultural Plants via in vitro Techniques. C. R. C. Press, Inc. Boca Raton, Florida. pp 710.
3. Debergh, P. A. y Maene, J. L. 1990. Cordyline and Dracaena. In: Handbook of plantcell culture. Vol. V. Ammirato, P. V., Evans, D. A.; Sharp, W. R. y Bajaj, P.S. (Eds.). McGraw-Hill. New York, USA. pp. 337-351.
4. Díaz, A. J. 1983. Producción comercial de plantas de ornato follajes. Fondo de Garantía y Fomento para la Agricultura, Ganadería y Avicultura. México. 71p.
5. Evaldsson, I. E. y Welander, N. T. 1985. The effects of medium composition on in vitro propagation and in vivo growth of Cordyline terminalis cv. Atoom. Journal of Horticultural Science. 60(4):525-530.
6. Evans, D. A., Sharp, W. R. y Flick, C. E. 1981. Growth and behavior of cell culture: Embryogenesis and organogenesis. In: Tissue culture, Methods and applications in agriculture. Thorpe, T. A. (Eds). Academic Press, New York. pp. 45-113.

7. FIRA. 1985. Instructivos técnicos de apoyo para la formulación de proyectos, financiamientos y asistencia técnica. Serie agricultura.
8. Flick, C. E., Evans, D. A. y Sharp, W. R. 1983. Organogenesis. In: Handbook of plant cell culture. Vol. 1. Sharp, W. R., Ammirato, P. V. y Yamada, T. (Eds). MacMillan Publishing. New York. pp. 13-81.
9. Harmann, H. T. y Kester D. E. 1988. Propagación de plantas. Principios y practicas. 4a.ed. Ed. CECSA.México.170p.
10. Hughes, W. K. 1981. Ornamental species. In: Cloning agricultural plants via in vitro techniques. Conger, B. V. (Eds). C. R. C. Press. Inc. 5-52.
11. Hurtado, M. D. y Merino, M. E. 1987. Cultivo de tejidos vegetales. Ed. Trillas. México. pp. 15-34.
12. Hussey, G. 1975. Totipotency in tissue explants and callus of some members of the Liliaceae, Iridaceae and Amaryllidaceae. J. Exp. Bot. 26: 235-262.
13. Jacobi, K. 1982. Plantas de interior guía práctica. Ed. Reverté. España. pp. 120.
14. Jirí, H. 1988. Plantas de interior. SUSAETA. Madrid. pp. 120.
15. Kagiwata, T. 1988. An anthracnose of Dracaena and Cordyline caused by Glomerella cingulata. Journal of Agricultural Science.34(1): 21-26.
16. Lammens, E., Thomas, F., Vanluchene, L. y Van Osem, J.G. 1975. Benaming van Kasplanten. Rijksstation voor Serplantenteelt, Melle, Belgium. 75 p.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

17. Larson, A. R. 1988. Introducción a la Floricultura. AGT. México. pp. 505-531.
18. Margara, J. 1988. Multiplicación vegetativa y cultivo in vivo. Los meristemas y las organogénesis. Mundi-prensa. Madrid. 230p.
19. Mathew, P. M. y Vijayavalli, B. 1989. Cytology of species de Cordyline and Dracaena from South India. Cytology. 54(3): 573-579.
20. Miller, L. R. y Murashige, T. 1976. Tissue culture propagation of tropical foliage plants. In vitro. 12(12):797-813.
21. Murashige, T. y Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth an bioassays with tobacco tissue cultures. Phys. Plant. 15: 473-493.
22. Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue cultures. Ann. Rev. Plant Phys. 25: 135-166.
23. Murashige, T. 1978. The impact of plant cell culture on agriculture. In: Frontiers of Plant Tissue Culture. Trevor, A. (Eds). Calgary Alberta, Canada. pp. 15-26.
24. Naranayaswamy, S. 1977. Regeneration of plants from tissue cultures. In: Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue and organ culture. Reinert, J. y Bajaj Y. P. S. (Eds). Springer-Verlang. Berlin. pp. 179-248.
25. Paek, K. Y. y Choi, J. K. 1985. Mass propagation of Cordyline and Scindapsus in vitro. Journal of the Korean Society for Horticultural Science. 26(1):82-92.

TESIS CON  
FALLA DE ORDEN

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

26. Pierik, R. L. M. 1990. Cultivo in vitro de las plantas superiores. Mundi-prensa. Madrid. 326 p.
27. Reinert, J., Bajaj, Y. P. S. y Zbell, B. 1973. Aspects organization. Organogenesis, embriogenesis, cytodifferentiation. Plant tissue and cell culture. 12(8): 20-24.
28. Takeuchi, M. 1973. Método de cultivo de tejidos vegetales. Colegio de Postgraduados. U. A. CH. México.
29. Vidalie, H. 1986. Cultivo in vitro. Editorial científica. México. 190 p.
30. Welander, T. 1988. Micropropagation of Cordyline terminalis cv. Atoom a European cooperation project. Rapport, Institutionen for tradgardsvetenskap, Sveriges Lantbruks Universitet. No. 54: 13.
31. Wilkins, C. P. y Dodds, J. H. 1883. Effect of various growth regulators and growth in vitro of cherry shoot tips. Plant Growth regulation. 1: 909-216.

## ANEXOS.

**Cuadro 8.** Análisis de varianza para la variable número de brotes producidos empleando el medio M.S adicionado con K.

F.V.	G.L.	S.C	C.M	Fc	Ft
Trats.	4	24.3248	6.0818	14.87	5.19 **
Error	5	2.8458	0.4898		
Total	9	26.3698			

C.V. 38.59 %

**Cuadro 9.** Prueba de Tukey

TRATAMIENTO	$\bar{X}$	
2	5.00	A
3	2.45	AB
1	1.00	B
4	1.00	B
5	1.00	B

Promedios con la misma letra son estadísticamente iguales

**Cuadro 10.** Análisis de varianza para la variable longitud de brotes empleando el medio M.S adicionado con K.

F.V.	G.L.	S.C	C.M	Fc	Ft
Trats.	4	2.1897	0.5474	005.06	5.19 **
Error	5	0.0034	0.0006		
Total	9	2.1931			

C.V. 2.29 %

**Cuadro 11.** Prueba de Tukey

TRATAMIENTO	$\bar{X}$	
1	1.75	A
2	1.24	B
5	1.20	B
4	1.20	B
3	0.30	BC

Promedios con la misma letra son estadísticamente iguales

**Cuadro 12.** Análisis de varianza para la variable número de brotes producidos empleando el medio M-S adicionado con ANA/BA.

F.V.	G.L.	S.C	C.M	Fc	Ft
Trats.	6	1213.7143	202.29	101.14	3.07 **
Error	7	14.0000	2.00		
Total	13	1227.7143			

C.V. 15.97 %

**Cuadro 13.** Prueba de Tukey.

TRATAMIENTO	$\bar{X}$	
2	27.00	A
3	10.00	B
6	9.00	C
5	4.00	CD
7	2.00	D
4	1.00	D
1	1.00	D

Promedios con la misma letra son estadísticamente iguales

**Cuadro 14.** Análisis de varianza para la variable longitud de brotes empleando el medio M.S adj - cionado con ANA/BA.

F.V.	G.L.	S.C	C.M	Fc	Ft
Trats.	6	34.8458	5.8076	264.67	3.87 **
Error	7	8.1526	0.8219		
Total	13	34.9994			

C.V. 8.80 %

**Cuadro 15.** Prueba de Tukey.

TRATAMIENTO	$\bar{Y}$	
1	5.58	A
7	2.88	B
2	1.62	BC
3	1.38	CD
6	1.08	DE
4	0.98	E
7	0.35	F

Promedios con la misma letra son estadísticamente iguales